

AVALIAÇÃO DA HERANÇA GENÉTICA DA RESISTÊNCIA À MANCHA MARROM DE ALTERNARIA DOS CITROS

JOSÉ A. SANTOS JÚNIOR¹; MARINÊS BASTIANEL²; IVAN B. MARTELLI³; THOMAS M.P. CAMPOS³; MARIÂNGELA CRISTOFANI-YALY³; FERNANDO A. AZEVEDO³; MARIELA T. VITORINO³; RODRIGO M. STUART³; MARCOS A. MACHADO³.

Nº10117

Resumo

A citricultura é uma das mais importantes atividades agrícolas no Brasil. As laranjas doces representam cerca de 80% dos plantios comerciais, cujo destino da produção é essencialmente voltado a indústria de suco concentrado congelado para a exportação. As tangerinas e seus híbridos constituem o segundo grupo de importância econômica. São dez milhões de plantas distribuídas pelas mais diferentes regiões edafoclimáticas, cuja produção é destinada ao consumo interno de frutas *in natura*. Existe uma grande demanda de produção de tangerinas para o mercado externo, entretanto a ocorrência da mancha marrom de alternária de forma endêmica nas principais regiões produtoras acarretou numa redução significativa na área plantada, uma vez que as principais variedades plantadas são suscetíveis à doença. Poucos estudos têm sido realizados para elucidar os mecanismos genéticos da resistência a doença nos citros, informações importantes para o melhoramento genético da espécie. A resposta “in vitro” ao fungo *Alternaria alternata*, agente causal da mancha marrom de alternaria, foi avaliada em duas populações de híbridos obtidas dos cruzamentos recíprocos entre tangor Murcott e tangerina Clementina. Sintomas característicos foram observados a partir de 12 horas de inoculação do fungo. Dos 100 híbridos avaliados, um total de 73 plantas do cruzamento Murcott x Clementina (M x C) e 63 do cruzamento recíproco (C x M) apresentaram sintomas em diferentes graus de suscetibilidade. Os resultados indicam que mais de um gene estão envolvidos na resistência e suscetibilidade dos citros a *Alternaria alternata*, patotipo tangerina.

¹ Bolsista CNPq: Graduando em Engenharia Agrônoma, CCA/UFSCar, Araras – SP,
✉ agnellojunior@hotmail.com

² Orientadora: Pesquisadora, Centro APTA de Citros Sylvio Moreira/IAC, Cordeirópolis - SP

³ Colaborador: Centro APTA de Citros Sylvio Moreira/IAC, Cordeirópolis - SP

Abstract

The citriculture is one of the most important Brazilian agricultural activities. Pera sweet orange represent about 80% of commercial orchards, whose production is mainly directed to the concentrated juice industry and exportation. Mandarins and hybrids represent the second group in economical importance. It is about 10 million plants distributed around the most diverse soil and climatic conditions, and production directed to *in natura* consumption. There is a large demand for production of mandarins for exportation; however the endemically occurrence of *Alternaria* brown spot in the main producing areas, resulted in a significant reduction in planted area, since the main mandarin varieties are susceptible to the disease. Few studies have been performed to elucidate the genetic mechanisms of disease resistance in citrus trees. The response *in vitro* to the fungus *Alternaria alternata*, the causal agent of *Alternaria* brown spot, was assessed in two populations of hybrids obtained from reciprocal crosses between Murcott and Clementine mandarin. Characteristic symptoms were observed after 12 hours of inoculation of the fungus. A total of 73 plants from crossed Murcott x Clementina x (M x C) and 63 hybrids of reciprocal crosses had symptoms in different degrees of susceptibility. The results indicate that more than one gene is involved in the citrus resistance/susceptibility to *Alternaria alternata*.

Introdução

O Brasil é o maior produtor mundial de laranjas e o maior exportador de suco concentrado congelado. As laranjas doces representam cerca de 80% dos plantios comerciais, concentrados no Estado de São Paulo, cujo destino da produção é essencialmente voltado a indústria. Para o mercado interno de fruta fresca, as tangerinas e alguns híbridos como o tangor Murcott (*Citrus sinensis* Osbeck x *C. reticulata* Blanco), um híbrido de laranja e tangerina, são responsáveis por grande parte da produção. Além disto, existe uma grande demanda de produção de tangerinas tanto para o mercado interno quanto para o externo, esse último ainda carente de variedades com características hortícolas apropriadas.

As principais variedades comerciais, principalmente aquelas plantadas no Sudeste, a maior região produtora de citros, como a tangerina Ponkan (*Citrus reticulata* Blanco) e o tangor Murcott são altamente suscetíveis a mancha marrom de alternaria, o que tem acarretado em uma redução significativa nos plantios comerciais destas variedades.

A doença, que ocorre de forma endêmica nas principais regiões produtoras, é causada possivelmente pela ação de uma toxina, produzida pelo fungo *Alternaria alternata*, patotipo tangerina (PERES et al., 2003; STUART et al., 2009). O fungo, causador da doença, se reproduz sobre material vegetal, presente na árvore ou caído no solo, por meio da formação de conídios. Estes germinam sobre o tecido suscetível liberando uma toxina específica ao hospedeiro-tangerina (ACT), causando necrose rápida. As condições ideais ocorrem com temperaturas em torno de 20-27°C, 10-12 horas de molhamento contínuo (TIMMER et al., 2003). Os sintomas em ramos, frutos, tecidos verdes imaturos ou em fase de crescimento, aparecem em média 24 horas após a infecção (KOHMOTO et al., 1993), causando sérios danos à planta e comprometendo a produção subsequente (STUART et al., 2009).

A herança genética da suscetibilidade e resistência à mancha marrom de alternaria nos citros ainda não está completamente elucidada. Uma das hipóteses sugeridas, por exemplo, é de que a resistência a *A. alternata* em citros é recessiva e, que a suscetibilidade é controlada por um simples gene dominante, possivelmente influenciado por uma herança citoplasmática (TIMMER et al., 2003), embora alguns autores sugiram que outros genes podem estar envolvidos nessa interação (PEEVER et al., 2000; BASTIANEL et al., 2005). Assim, o objetivo deste estudo foi o de avaliar a doença em duas populações segregantes de citros obtidas dos cruzamentos recíprocos de tangor Murcott (suscetível) e tangerina Clementina (*Citrus clementina*, resistente) e observar o tipo de segregação fenotípica em ambas as populações para melhor inferir sobre a herança genética da resistência/suscetibilidade a doença nos citros.

Material e Métodos

Foram avaliados híbridos oriundos de duas populações de híbridos recíprocos dos cruzamentos realizados entre tangor Murcott e tangerina Clementina, obtidos em estudos anteriores e mantidos em casa de vegetação. Um total de 200 híbridos, sendo 100 plantas de cada F₁, foi selecionado ao acaso para este estudo.

O inoculo inicial do fungo foi obtido a partir de lesões típicas da doença, que foram inoculadas em meio de cultura BDA, contendo o fungicida carbendazin para excluir a proliferação de outros fungos. Após um período de 24 a 48 horas de crescimento, hifas

características identificadas com o auxílio de microscópio foram transferidas para placas de Petri contendo BDA e incubadas nas mesmas condições do inóculo inicial, por um período de três a quatro dias para induzir a produção de conídios. Com a ajuda de uma espátula estéril, conídios foram retirados da superfície da placa, quantificados e suspensos com água esterilizada a uma concentração de 10^5 conídios.

A suspensão de conídios foi borrifada em folhas destacadas de cada híbrido, que foram mantidas em placas de Petri, umedecidas com algodão emergido em água estéril; incubadas em uma câmara úmida (B.O.D.) a temperatura de 27°C.

As avaliações da doença, em ambos os casos, tiveram início 12 horas após inoculação por até quatro dias, através da observação da presença de sintomas típicos da doença e, posteriormente em determinações da área lesionada (% da folha tomada pelos sintomas da doença).

Resultados e Discussão

Sintomas característicos foram observados a partir de 12 horas de inoculação do fungo. Após 72 horas de inoculação, dos 100 híbridos avaliados, um total de 27 do cruzamento Murcott x Clementina (M x C) não apresentaram sintomas, enquanto 37 foram assintomáticos quando a tangerina Clementina foi utilizada como parental feminino (C x M).

Em relação aos híbridos suscetíveis foi observada uma grande variação nos níveis de sintomas para os híbridos de ambas as populações F_1 (Figura 1). Como observado anteriormente, a resposta diferenciada de híbridos bastante próximos sugere que outros genes podem estar envolvidos nessa interação (PEEVER et al., 2000).

A hipótese de segregação 3:1 foi testada e o teste de homogeneidade de X^2 estimado foi de 0,1 para M x C e de 3,84 para C x M, valores, respectivamente, menor e igual ao valor tabelado $X^2 = 3,84$ ($\alpha = 0,05$ e GL = 1). Assim sendo, a hipótese nula (H_0 = segregação 3:1) não é rejeitada e a frequência observada corresponde a uma segregação Mendeliana 3:1, possivelmente devida a dois genes.

Recentemente, um QRL (“quantitative resistance loci”) de grande efeito (que explica 30% do fenótipo observado) foi localizado e identificado em um mapa de ligação de citros, obtido pela análise de 143 híbridos de tangor Murcott e laranja Pêra,

respectivamente suscetível e resistente à mancha marrom de Alternária (Bastianel, M - dados não publicados). A análise fenotípica da característica ‘porcentagem de ponteiros afetados’ na população apresentou uma segregação fenotípica 3:1 (suscetível e resistente, respectivamente). A detecção de apenas um QRL de efeito moderado pode corroborar para a segregação fenotípica observada sugerindo que dois genes estejam envolvidos com a resistência dos citros à doença.

Além disso, a presença de híbridos resistentes quando a variedade suscetível foi utilizada como parental feminino, sugere que não haja herança citoplasmática envolvida na resistência ou suscetibilidade dos citros a mancha marrom de alternaria, entretanto, cabe ressaltar que este foi um teste cujas plantas foram avaliadas *in vitro*. Avaliações *in vivo* estão em andamento e poderão ou não confirmar estas hipóteses.

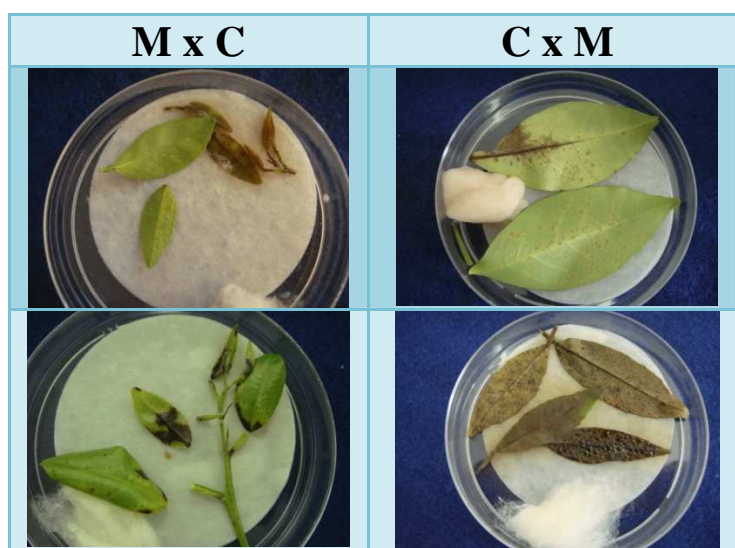


Figura 1: Sintomas observados em alguns híbridos de ambos os cruzamentos estudados, com diferentes níveis de suscetibilidade ao fungo *Alternaria alternata*, patotipo tangerina.

Conclusões

Os resultados observados sugerem que, possivelmente, mais de um gene estão envolvidos na resposta dos citros ao fungo *Alternaria alternata* patotipo tangerina, causador da doença mancha marrom de alternaria.

Agradecimentos

Agradeço ao CNPq pelo Suporte Financeiro.

Referências Bibliográficas

- BASTIANEL, M.; AZEVEDO, F.A.; CRISTOFANI, M.; MACHADO, M. A. Mancha marrom de alternária: uma interação fungo, toxina e tangerina. *Laranja*, v. 26, n. 2, p. 323-336, 2005.
- KOHMOTO, K.; ITOH, Y.; SHIMOMURA, N.; KONDOH, Y.; OTANI, H.; KODAMA, M.; NISHIMURA, S. & NAKATSUKA, S. Isolation and biological activities of two host-specific toxins from the tangerine pathotype of *Alternaria alternata*. *Phytopathology* v.83, p.495-502, 1993.
- PEEVER, T.L; OLSEN, L.; IBÁÑEZ, A. & TIMMER, L.W. Genetic differentiation and host specificity among populations of *Alternaria spp.* causing brown spot of grapefruit and tangerine x grapefruit hybrids in Florida. *Phytopathology*, v.90, p.407-414, 2000.
- PERES, N.A.R.; AGOSTINI, J.P. & TIMMER, L.W. Outbreaks of *Aternaria* brown spot of Brazil and Argentina. *Plant Disease* v.87, p.750, 2003.
- STUART, R.M.; BASTIANEL, M.; AZEVEDO, F.A.; MACHADO, M.A. *Alternaria* brown spot. *Laranja*, v.30, p. 29-44, 2009.
- TIMMER, L.W.; PEEVER, T.L.; SOLEIL, Z.; AZUYA, K. & KIMITSU, A. *Alternaria* diseases of citrus-novel pathosystems. *Phytopathologia Mediterranea*, v.42, p.99-112, 2003